

بررسی شیوع/استرپتوکوکوس پنومونیه و مقاومت پنی سیلین حاملین حلقی زیر ۵ سال در شهرکرد، ۱۳۸۶

دکتر ابوالفضل خوشدل*، دکتر رضا ایمانی**، ابراهیم ساعدی***، دکتر سلیمان خیری†، دکتر مجید حمیدی*، دکتر کرمانی کثیری*، دکتر محمدرضا ملک احمدی*، دکتر غلامرضا پناهنده*، مریم توکلی††، دکتر حمید روحی بروجنی†††

*استادیار گروه اطفال- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، **استادیار گروه عفونی- مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ***کارشناس ارشد انگل شناسی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، †استادیار گروه آمار و اپیدمیولوژی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ††پزشک عمومی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، †††استادیار گروه داخلی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۱۳/۳/۸۷ تاریخ تایید: ۸۷/۷/۱

چکیده:

زمینه و هدف: استرپتوکوکوس پنومونیه شایع ترین علت عفونت های تنفسی باکتریال در جامعه و یکی از علل مهم عفونت گوش میانی، باکتری و مننژیت است. اطلاعات کمی در مورد مقاومت/استرپتوکوکوس پنومونیه به آنتی بیوتیک در ایران وجود دارد. هدف از این مطالعه تعیین شیوع حاملین/استرپتوکوکوس پنومونیه و بررسی الگوی مقاومت میکروبی آن به پنی سیلین در کودکان زیر ۵ سال سالم مراجعه کننده به مراکز بهداشتی است.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی - تحلیلی در فصل تابستان و پاییز سال ۸۶ در شهرکرد انجام گرفت. تعداد ۲۲۴ کودک سالم زیر ۵ سال مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرکرد وارد مطالعه شدند. نمونه گیری از کودکان با سواب از ته حلق انجام گرفت و کولونی های/استرپتوکوکوس پنومونیه به روش استاندارد جدا گردید و الگوی مقاومت به پنی سیلین با استفاده از دیسک اگزاسیلین مورد بررسی قرار گرفت. داده ها با استفاده از آمار توصیفی - تحلیلی (آزمون های آماری کای دو و من ویتنی) تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: از ۲۲۴ کودک سالم زیر ۵ سال، ۳۸ نفر (۱۷٪) حامل/استرپتوکوکوس پنومونیه بودند و میزان مقاومت این میکروارگانیسم به پنی سیلین ۲۸/۹٪ بود. اختلاف معنی داری بین مقاومت آنتی بیوتیکی با جنس و سن بدست نیامد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد داروهای گروه پنی سیلین در جمعیت مورد مطالعه ما هنوز برای درمان عفونت های/استرپتوکوکوس پنومونیه داروهای مناسبی هستند.

واژه های کلیدی: استرپتوکوکوس پنومونیه، پنی سیلین، کودکان، مقاومت آنتی بیوتیکی.

مقدمه:

این میکروارگانیسم ایجاد می شود (۱) و سالانه مرگ یک میلیون کودک زیر ۵ سال در ارتباط با/استرپتوکوکوس پنومونیه می باشد (۲).

در کودکان سالم این میکروارگانیسم در سیستم تنفسی فوقانی کولونیزه می گردد و حضور این میکروارگانیسم در گلو، نقش مهمی در گسترش آن در خانواده و مدرسه و مراکز مراقبت های روزانه دارد. این

استرپتوکوکوس پنومونیه (*S. pneumonia*) یک میکروارگانیسم گرم مثبت با بروز بالا است و می تواند در ناحیه نازوفارنکس بدون ایجاد علامت بعنوان بخشی از فلور میکروبی وجود داشته باشد. این میکروارگانیسم یکی از عوامل شایع ایجاد کننده عفونت تنفسی و عفونت گوش میانی و سیستم عصبی مرکزی می باشد. تقریباً ۳۰ درصد عفونت های تنفسی توسط

مسئله یک عامل خطرزای مهم برای ایجاد بیماری هایی مثل عفونت گوش میانی، سینوزیت، پنومونی، عفونت خون و مننژیت است که بعضی از این موارد می تواند منجر به مرگ کودک گردد (۴،۳).

حضور در مراکز مراقبت های روزانه، سن پایین، مصرف قبلی آنتی بیوتیک، بیماری های زمینه ای و عفونت اخیر تنفسی از جمله عوامل خطرزا هستند که در حامل بودن افراد نقش دارند (۶،۵).

میزان حامل بودن افراد در فصول سرد در کشورهای گرمسیری بالاتر از مناطق دیگر است (۷). گرچه مطالعات اخیر نشان داده که تنوع فصلی تاثیر زیادی در حامل بودن نازوفارنکس با این میکروارگانیسم ندارد (۸).

در کلیه مناطق جهان یک افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در *استرپتوکوک پنومونیه* های جدا شده از جوامع دیده شده که این مسئله نشانه سوش های مقاوم در گردش در جوامع است (۹،۱۰،۱۱).

وجود سوش های مقاوم به پنی سیلین و دیگر داروهای مصرفی رایج حتی در حاملین سالم ممکن است درمان تجربی (Empirical) عفونت ها را به علت این سوش های مقاوم با مشکل روبرو کند. در مطالعه ای که در تعداد ۸۴۸ کودک سالم در مدارس ابتدایی در ترکیه انجام گرفت تعداد ۱۶۲ نفر (۱۹/۱٪) حامل استرپتوکوکوس پنومونیه بودند که از این تعداد ۱۷ نفر (۱۰/۵٪) به پنی سیلین مقاومت داشتند (۱۲). همچنین در مطالعه ای که در بخش های نوزادان شهر اصفهان انجام گرفت حاملین استرپتوکوکوس پنومونیه ۷/۲۶ درصد بودند که ۳۲/۲۹ درصد آنان به پنی سیلین مقاوم بودند (۱۳).

تعیین حساسیت دارویی در زمان های مختلف در هر جامعه برای بررسی مقاومت میکروارگانیسم در درمان آنتی بیوتیکی تجربی بسیار ارزشمند است. با توجه به اینکه کودکان با سنین پایین که اغلب با این میکروارگانیسم کلونیزه می شوند بیشتر به عفونت گوش میانی مبتلا می گردند و کودکان سالم که حامل استرپتوکوک پنومونیه هستند یک منبع عفونی برای

خود و دیگران هستند اطلاعات در باره حاملین می تواند شیوع بیماری را پیشگویی کند (۸).

با توجه به اینکه در شهر کرد اطلاعات در مورد میزان حاملین این میکروارگانیسم و همچنین مقاومت آنتی بیوتیکی وجود ندارد بر آن شدیم تا میزان حاملین حلقی و حساسیت آنتی بیوتیکی این میکروارگانیسم جدا شده از کودکان سالم زیر ۵ سال را مورد مطالعه قرار دهیم.

روش بررسی:

در این مطالعه از کودکان زیر ۵ سال تحت پوشش مراکز بهداشتی - درمانی شهر کرد که برای دریافت مراقبت های بهداشتی مراجعه می کردند بصورت در دسترس نمونه گیری انجام گردید. این مطالعه در فصل بهار و تابستان ۱۳۸۶ انجام گرفت.

قبل از نمونه گیری برای هر کودک پرسشنامه ای که شامل مشخصات کودک، مصرف اخیر آنتی بیوتیک و تاریخ آزمایشات بود تکمیل گردید.

نمونه گیری از کودکان با دقت بوسیله سواب از ته حلق انجام شد. سپس سواب را دهان خارج کرده و در محیط انتقالی به نام استوارت (Stuart) ساخت کارخانه مرک آلمان قرار داده شد. بر روی محیط کشت TSA (Trypticase Soy Agar) ساخت کارخانه مرک آلمان کشت داده شد (۱۴).

محیط کشت TSA حاوی ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفند همراه با ۵ میلی گرم جنتیامایسین بود که بصورت پلیت (plate) تهیه شده و پلیت ها در درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده می شد. بعد از ۲۴ ساعت از کلونی های گرد، شفاف و کوچک با یک هاله نازک همولیز آلفا، لام تهیه و رنگ آمیزی گرم انجام می گرفت. در رنگ آمیزی گرم *استرپتوکوک پنومونیه* ها بصورت کوکسی مدور یا بیضوی به قطر حدود یک میکرون بصورت تکی، دوتایی یا زنجیره کوتاه دیده می شد. برای تایید وجود استرپتوکوک پنومونیه از تست حساسیت به اپتوچین (Optochin) استفاده می شد. به این منظور از دیسک اپتوچین با نام

توصیفی - تحلیلی (آزمون های کای دو و من ویتنی)
تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها:

در مجموع از ۲۲۴ کودک زیر ۵ سال مورد بررسی
تعداد ۱۱۶ نفر (۵۱/۸٪) از کودکان مورد مطالعه پسر و بقیه
دختر بودند.

سن کودکان در دامنه ۶-۱ سال با میانگین
۲۹/۶±۱۸/۳ ماه بود. از میان آنها ۱۳ نفر (۵/۸٪) در یک
ماه گذشته مصرف آنتی بیوتیک داشتند. ۳۸ مورد
(۱۷٪) از کودکان حامل/استرپتوکوک پنومونیه بودند.

حاملین حلقی در پسرها ۲۱ (۱۸/۱٪) مورد و در
دختران ۱۷ مورد (۱۵/۷٪) بدست آمد و با استفاده از آزمون
مجذور کای اختلاف معنی داری بین شیوع حاملین
استرپتوکوک پنومونیه و جنس بدست نیامد ($P>0/05$).

شیوع حاملین استرپتوکوک پنومونیه بر اساس گروه
سنی مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین نمونه های گرفته
شده در گروه سنی زیر ۲ سال بودند. با استفاده از آزمون
مجذور کای اختلاف معنی داری بین شیوع حاملین
استرپتوکوک پنومونیه و سن بدست نیامد (جدول شماره ۱).

پس از تعیین حاملین مثبت/استرپتوکوک پنومونیه با
استفاده از تست اگراسیلین تعداد ۲۷ نفر (۷۱/۱٪) حساس و
۱۱ مورد (۲۸/۹٪) مقاومت داشتند.

تجاری Fan azam Tadbir استفاده شد. برای انجام تست
حساسیت به اپتوجین پس از رنگ آمیزی از کلونی های
مشکوک به استرپتوکوک پنومونیه بر روی محیط TSA
کشت مجدد یا Subculture تهیه گردید. سپس یک عدد
دیسک اپتوجین در وسط محیط کشت قرار داده و به مدت
۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار
می گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت چنانچه قطر هاله
اطراف دیسک به میزان ۱۶ میلی متر یا بیشتر می شد نسبت
به دیسک اپتوجین حساس در نظر گرفته می شد (۱۵).

از نمونه هایی که مشاهده استرپتوکوک پنومونیه
در آنها با دیسک اپتوجین اثبات شده بود برای بررسی
مقاومت آنتی بیوتیکی آنها از تست اگراسیلین استفاده
گردید. برای انجام این کار از دیسک اگراسیلین یک
میکروگرمی با نام (پادتن طب) استفاده و در این روش
نیز مانند حالت قبل یک عدد دیسک اگراسیلین در
وسط محیط کشت قرار داده شد و بعد از گذشت ۲۴
ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد
چنانچه قطر هاله اطراف دیسک ۲۰ میلی متر یا بیشتر
می شد حساس و در غیر این صورت مقاوم در نظر
گرفته می شد (۱۶).

داده های بدست آمده در مورد نتایج مثبت
کشت و حساسیت آنها در تست اگراسیلین به همراه
اطلاعات پرسشنامه و با استفاده از تست های آمار

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی حاملین استرپتوکوک پنومونیه بر حسب سن و جنس

سن	نتیجه		منفی	دختر حامل	پسر حامل
	مثبت	مثبت			
کمتر از یکسال	۳	۲۳	۱۷/۲	۱۰	
۱-۲ سال	۵	۱۹	۱۶/۱	۳۲	
۲-۳ سال	۴	۱۴/۲	۲۵	۲۰	
۳-۴ سال	۳	۱۳/۸	۱۴/۳	۱۷/۴	
۴-۵ سال	۲	۱۳	۵/۶	۷/۷	
جمع	۱۷	۸۳	۱۵/۷	۱۸/۱	

آزمون مجذور کای دو اختلاف معنی داری بین شیوع حاملین/استرپتوکوک پنومونیه در سنین مختلف نشان نداد.

۲۲۴ نفر n=

داده ها بر اساس درصد می باشد.

با استفاده از آزمون کای دو اختلاف معنی داری بین مقاومت آنتی بیوتیکی با جنس بدست نیامد. همچنین با استفاده از آزمون من ویتنی بین مقاومت آنتی بیوتیکی و سن نیز اختلاف معنی داری یافت نشد (جدول شماره ۱).

رابطه بین مصرف آنتی بیوتیک در ماه گذشته با شیوع و مقاومت آنتی بیوتیکی بررسی گردید و ارتباط معنی داری بدست نیامد.

بحث:

جمعیت مورد مطالعه ما کودکان زیر ۵ سال سالم مراجعه کننده به مراکز مراقبت های بهداشتی شهری بودند که میزان حاملین حلقی در آنها ۱۷ درصد بدست آمد.

بطور کلی میزان حاملین حلقی / استرپتوکوک پنومونیه در جوامع مختلف متفاوت است. این میکروارگانیسم بیشتر از افراد بیمار جدا می گردد (۱۷). در یک مطالعه از کشور رم میزان حاملین حلقی / استرپتوکوک پنومونیه ۱۴/۹ درصد گزارش شده و ۳ نفر از این افراد حامل اعضای یک خانواده بودند که در آن مطالعه این مسئله تنها عامل خطرزا در ایجاد حاملین بوده است (۱۸).

در مطالعه ای که توسط Chiou و همکارانش در چین انجام شد ۲۱ درصد از نمونه ها، حاملین سالم / استرپتوکوک پنومونیه بودند. در این مطالعه ۲۹۰۵ نمونه از کودکان ۲ ماهه تا ۷ ساله ای که جهت مراقبت به مراکز درمانی مراجعه کرده بودند گرفته شد و ۶۱۱ نمونه از نظر / استرپتوکوک پنومونیه مثبت گزارش شد (۱۹).

در مطالعه Gazi و همکارانش در ترکیه تعداد ۱۰۲۲ کودک دبستانی به طور تصادفی از ۹ مدرسه وارد مطالعه شدند. سواب های حلقی از بچه ها گرفته شده و کشت داده شد. در این میان ۲۳/۴ درصد از بچه ها حامل / استرپتوکوک پنومونیه بودند که از میان این تعداد ۷ درصد به پنی سیلین مقاوم بودند (۲۰).

مطالعه دیگری نیز در سال ۲۰۰۱ توسط

Ferreira و همکارانش انجام شد که شیوع حاملین سالم / استرپتوکوک پنومونیه ۳۵ درصد گزارش شد. در این مطالعه ۴۰۰ نمونه سواب از نازوفارنکس کودکان ۳ ماهه تا ۵ ساله تهیه کردند که تعداد موارد مثبت ۱۳۹ کودک (۳۵٪) بود. تعداد نمونه های گرفته شده در این مطالعه از مراکز مراقبت و نگهداری کودکان بود و اکثر نمونه ها خواهر و برادر زیر ۵ سال داشتند (۲۱). این دو مورد می تواند علتی برای افزایش میزان شیوع حاملین سالم در این مطالعه نسبت به مطالعه ما باشد.

در مطالعه ما ارتباطی بین سن و شیوع حاملین وجود نداشت. در مطالعه Granat شیوع / استرپتوکوک پنومونیه با افزایش سن ارتباط داشت. یعنی ۵۰ درصد از بچه ها توسط استرپ پنومونیه در ۸ هفته اول زندگی کلونیزه شده بودند (۲۲). در مطالعه ما بیشترین نمونه های گرفته شد در گروه سنی زیر ۲ سال بودند ولی در مطالعه Granat بیشتر نمونه ها در سنین زیر ۸ هفته گرفته شده بود و شاید این سن نمونه گیری باعث ایجاد ارتباط بین سن و شیوع حاملین در این مطالعه شده باشد (۲۲).

ارتباط بین شیوع استرپتوکوک پنومونیه در حاملین زیر ۵ سال با مصرف اخیر (یک ماه اخیر) آنتی بیوتیک بررسی گردید و ارتباطی بین آنها بدست نیامد در مطالعه Ferreria و همکارانش شیوع / استرپتوکوک پنومونیه در گروه کودکانی که مصرف آنتی بیوتیک داشتند بیشتر بود (۲۱). تفاوتی که این مطالعه با مطالعه ما دارد را می توان به درصد پایین مصرف آنتی بیوتیک (۵/۸٪) در نمونه ها نسبت داد و علت مصرف پایین آنتی بیوتیک بعثت کاهش عفونت های تنفسی در فصل بهار و تابستان می باشد. در این مطالعه از میان حاملین سالم / استرپتوکوک پنومونیه با کمک تست اگراسیلین میزان مقاومت این میکروارگانیسم به پنی سیلین ۲۸/۹ درصد بود و ۷۱/۱ درصد به پنی سیلین حساس بودند.

در مطالعه ای در فرانسه میزان مقاومت به پنی سیلین با کمک تست اگراسیلین در حدود ۳۰/۵

درصد بدست آمد و در تایوان میزان مقاومت *استرپتوکوک پنومونیه* به پنی سیلین در حدود ۲۹/۲ درصد گزارش گردید. در کشورهای اسکاندیناوی درصد مقاومت نسبت به کشورهای اروپایی کمتر است و در فنلاند در سال ۱۹۹۷ شیوع مقاومت به پنی سیلین ۳-۴ درصد بوده است (۲۶،۲۵).

کاهش حساسیت به پنی سیلین در سال ۱۹۹۷ در پرو، ۵ درصد و در سال ۲۰۰۱، ۲۰ درصد و در سال ۲۰۰۳، ۳۷ درصد گزارش گردیده است (۲۷). در مطالعه ما با توجه به اینکه مقاومت *استرپتوکوک پنومونیه* به پنی سیلین زیاد بالا نیست می توان نتیجه گرفت که پنی سیلین هنوز برای درمان عفونت های پنوموک در جمعیت ما آنتی بیوتیک مناسبی است و با درصد حساسیت بالا (۷۱/۱٪) می توان از این دسته داروها برای درمان عفونت های *استرپتوکوک پنومونیه* استفاده نمود. زیرا آگاهی در مورد الگوی حساسیت اهمیت زیادی برای تصمیم گیری پزشک برای درمان تجربی عفونت ها در مراحل اولیه دارد. با توجه به اینکه عفونت *استرپتوکوک پنومونیه* شیوع فصلی دارد و در مناطق گرمسیری در فصول سرد میزان حاملین افزایش می یابد مطالعه ما در فصل تابستان و پاییز انجام گرفت که این مسئله می تواند در میزان شیوع عفونت تاثیر داشته باشد.

از طرفی مطالعات اخیر نشان داده که تنوع فصلی تاثیر زیادی در میزان حاملین حلقی با این میکروارگانیسم ندارد. بعنوان مثال در مطالعه ای که در کودکان سالم ایتالیایی در مراکز مراقبت های روزانه و مدارس ایتالیا انجام گرفت در دو فصل پاییز و بهار ۱۵۸۰ کودک سالم یک تا ۷ ساله در این مراکز مورد مطالعه قرار گرفتند و دیده شد که تاثیر فصل در حاملین پاتوژن های تنفسی از جمله *استرپتوکوکوس پنومونیه* در کودکان سالم قابل چشم پوشی است (۹). یکی از علت های مهم کاهش میزان حاملین در

مطالعه ما نسبت به دیگر مطالعات این مسئله بوده که در مطالعه ما کودکانی که مبتلا به عفونت های ویروس بوده اند از مطالعه حذف گردیدند و همچنین کودکان مورد مطالعه ما در مراکز مراقبت های روزانه نبودند و مصرف آنتی بیوتیک در گروه مورد مطالعه پایین بوده است.

مصرف آنتی بیوتیک در مطالعات مختلف بعنوان یک فاکتور خطرزا برای ایجاد سوش های مقاوم *استرپتوکوک پنومونیه* در حاملین ذکر گردیده است (۲۸-۳۰). علت این امر این است که آنتی بیوتیک از رشد میکروب های حساس در حلق جلوگیری نموده و میکروارگانیسم های مقاوم اجازه می یابند که به رشد خود ادامه دهند. مصرف آنتی بیوتیک در یک ماهه اخیر در مطالعه ما پایین بوده و میزان حاملین در این گروه کم بوده اند و بررسی از نظر ارتباط بین مصرف آنتی بیوتیک بعنوان یک فاکتور خطرزا برای ایجاد سوش های مقاوم در حاملین در این مطالعه میسر نگردید (۳۱) ولی در یک مطالعه ارتباطی بین مصرف آنتی بیوتیک و ایجاد کولونیزه شدن *استرپتوکوک پنومونیه* های مقاوم بدست نیامده است.

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج این تحقیق بنظر می رسد که مقاومت میکروارگانیسم *استرپتوکوکوس پنومونیه* حاصله از افراد مورد مطالعه به پنی سیلین زیاد بالا نیست. بنابراین می توان نتیجه گرفت که این دارو هنوز برای درمان عفونت های پنوموک در جمعیت ما داروی مناسبی است.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از معاون پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جناب آقای دکتر یوسفی به خاطر تأمین بودجه انجام طرح و همچنین از همکاران در گروه میکروبیولوژی به خاطر کمک در انجام این تحقیق قدردانی می گردد.

منابع:

1. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. Rev Infect Dis. 1991 May-Jun; 13(Suppl 6): S454-S62.
2. W.H.O. Report on infectious diseases 2000: overcoming antimicrobial resistance Geneva: world Health organization. 2000; (http://www.who.int/infectious_disease-report-2000/index.htm)
3. Mosca A, Carucci A, Santacroce L, Schettini F, De Mattia D, Miragliotta G. Streptococcus pneumoniae nasopharyngeal colonization in young healthy children: rate of carriage, serotype distribution, and antibiotic resistance. New Microbiol. 2003 Apr; 26(2): 187-92.
4. Musher DM. Infections caused by *Streptococcus pneumonia*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity, and treatment. Clin Infect Dis. 1992 Apr; 14(4): 801-7.
5. Ciftci E, Dogru U, Aysev D, Ince E, Guriz H. Investigation of risk factors for penicillin-resistant *Streptococcus pneumonia* carriage in Turkish children. Pediatr Int. 2001 Aug; 43(4): 385-90.
6. Regev-Yochay G, Raz M, Shainberg B, Dagan R, Varon M, Dushenat M, et al. Independent risk factors for carriage of penicillin-non-susceptible *Streptococcus pneumonia*. Scand J Infect Dis. 2003; 35(4): 219-22.
7. Kanungo R, d'Lima D, Rajalakshmi B, Natarajan MK, Badrinath S. Throat carriage of pneumococci in healthy school children in the Union Territory of Pondicherry. Indian J Med Res. 2000 Sep; 112: 100-3.
8. Faden H, Duffy L, Wasielewski R, Wolf J, Krystofik D, Tung Y. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. Tonawanda/Williamsville Pediatrics. J Infect Dis. 1997 Jun; 175(6): 1440-5.
9. Marchisio P, Gironi S, Esposito S, Schito GC, Mannelli S, Principi N. Ascanius project collaborative group seasonal variations in nasopharyngeal carriage of respiratory pathogens in healthy Italian children attending day-care centers or schools. J Med Microbiol. 2001 Dec; 50(12): 1095-9.
10. Tang YW, Li H, Griffin JP, Haas DW, D'Agata EM. Rapidly increasing prevalence of penicillin-resistant *Streptococcus pneumonia* in middle Tennessee: a 10-year clinical and molecular analysis. J Clin Microbiol. 2002 Feb; 40(2): 395-9.
11. Whitney CG, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Lexau C, Reingold A, et al. Active bacterial core surveillance program of the emerging infections program network increasing prevalence of multidrug-resistant *Streptococcus pneumonia* in the United States. N Engl J Med. 2000 Dec; 343(26): 1917-24.
12. Bayraktar MR, Durmaz B, Kalcioğlu MT, Durmaz R, Cizmeci Z, Aktas E. Nasopharyngeal carriage, antimicrobial susceptibility, serotype distribution and clonal relatedness of *Streptococcus pneumonia* isolates in healthy children in Malatya, Turkey. Int J Antimicrob Agents. 2005 Sep; 26(3): 241-6.
13. Marchisio P, Gironi S, Esposito S, Schito GC, Mannelli S, Principi N. Seasonal variations in nasopharyngeal carriage of respiratory pathogens in healthy Italian children attending day-care centers or schools. J Med Microbiol. 2001; 12: 1095-9.
14. Tan YM, Li V, Griffin JP, Haas DW, D'Agata EM. Rapidly increasing prevalence of penicillin-resistant *Streptococcus pneumonia* in middle Tennessee: a 10-years clinical and molecular analysis. J Clin Microbiol. 2002; 40: 395-9.
15. Whitney CG, Farley MM, Hadler J. Increasing prevalence of multidrug-resistant *Streptococcus pneumonia* in the united state. N Engl J Med. 2003; 343: 1917-24.

16. Bayraktar MR, Durmaz B, Kalcioğlu MT, Durmaz R, Cizmeci Z, Aktas E. Nasopharyngeal carriage, antimicrobial susceptibility, serotype distribution and clonal relatedness of *Streptococcus pneumoniae* isolates in healthy children in Malatya, Turkey. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 Sep; 26(3): 241-6.
17. Pato MV, Carvalho CB, Tomasz A. Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Portugal. A multicenter study between 1989 and 1993. *Microb Drug Resist*. 1995 Spring; 1(1): 59-69.
18. Petrosillo N, Pantosti A, Bordi E, Spano A, Del Grosso M, Tallarida B, et al. Prevalence, determinants, and molecular epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* isolates colonizing the nasopharynx of healthy children in Rome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002 Mar; 21(3): 181-8.
19. Chiou CC, Liu YC, Huang TS, Hwang WK, Wang JH, Lin HH, et al. Extremely high prevalence of nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* among children in Kaohsiung, Taiwan. *J Clin Microbiol*. 1998 Jul; 36(7): 1933-7.
20. Gazi H, Kurutepe S, Surucuoglu S, Teker A, Ozbakkaloglu B. Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens in the oropharynx of healthy school children in Turkey. *Indian J Med Res*. 2004 Nov; 120(5): 489-94.
21. Ferreira LL, Carvalho ES, Berezin EN, Brandileone MC. Nasopharyngeal colonization and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children with acute rhinopharyngitis. *J Pediatr (Rio J)*. 2001 May-Jun; 77(3): 227-34.
22. Granat SM, Mia Z, Ollgren J, Herva E, Das M, Piirainen L, et al. Longitudinal study on pneumococcal carriage during the first year of life in Bangladesh. *Pediatr Infect Dis J*. 2007 Apr; 26(4): 319-24.
23. Desbordes L, Donnio PY, Vaucel J, Abalain ML, Anguill M, Aubry JP, et al. Antibiotics resistance of *Streptococcus pneumoniae*: Results from the Brittany registry for 1999. *Pathol Biol (Paris)*. 2002 Nov; 50(9):560-4.
24. Huang FY, Chiu NC, Liu SC. Penicillin-resistant pneumococcal infections in children. *J Formos Med Assoc*. 1997 Jun; 96(6): 414-8.
25. Nowosiad MM, Giedrys-Kalemba ST. Resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in the West Pomeranian Province in 2001-2003. *J Formos Med Assoc*. 1997 Jun; 96(6): 414-8.
26. Ortqvist A. Pneumococcal disease in Sweden: experiences and current situation. *Am J Med*. 1999 Jul; 107(1A): S44-S9.
27. Ochoa TJ, Rupa R, Guerra H, Hernandez H, Chaparro E, Tamariz J, et al. Penicillin resistance and serotypes/serogroups of *Streptococcus pneumoniae* in nasopharyngeal carrier children younger than 2 years in Lima, Peru. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005 May; 52(1): 59-64.
28. Arason VA, Kristinsson KG, Sigurdsson JA, Stefánsdóttir G, Molstad S, Gudmundsson S. Do antimicrobials increase the carriage rate of penicillin resistant pneumococci in children? Cross sectional prevalence study. *BMJ*. 1996 Aug; 313(7054): 387-91.
29. Duchin JS, Breiman RF, Diamond A, Lipman HB, Block SL, Hedrick JA, et al. High prevalence of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* among children in a rural Kentucky community. *Pediatr Infect Dis J*. 1995 Sep; 14(9): 745-50.
30. Robins-Browne RM, Kharsany AB, Koornhof HJ. Antibiotic-resistant pneumococci in hospitalized children. *J Hyg (Lond)*. 1984 Aug; 93(1): 9-16.
31. Syrogiannopoulos GA, Grivea IN, Beratis NG, Spiliopoulou AE, Fasola EL, Bajaksouzian S, et al. Resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* from carriers attending day-care centers in southwestern Greece. *Clin Infect Dis*. 1997 Aug; 25(2): 188-94.

